Münster.1933.No 67 Med Diss.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster/Westf.
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Über den Einfluß der Glykoside Adonidin und Convallamarin auf die Dehydrierungsvorgänge im Gewebe.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

vorgelegt von
Hilde Paulus, Zahnärztin
Essen / Ruhr

1933

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster/Westf.
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Über den Einfluß der Glykoside Adonidin und Convallamarin auf die Dehydrierungsvorgänge im Gewebe.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

vorgelegt von
Hilde Paulus, Zahnärztin
Essen / Ruhr

1933

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern gewidmet.

Dekan: Prof. Dr. von Szily
Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann
Korreferent: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster/Westf.

Über den Einfluß der Glykoside Adonidin und Convallamarin auf die Dehydrierungsvorgänge im Gewebe.

Zu den Verbindungen mit digitalisartiger Wirkung gehören zu den von Kirchner untersuchten Glykosiden Cymarin und Scillaren die Glykoside Adonidin aus Adonis vernalis und Convallamarin aus Convalaria maryalis (Maiglöckchen). Diese Stoffe beeinflussen die Kreislauffunktionen ähnlich wie die Digitaliskörper und sind in letzter Zeit wieder in die Herztherapie eingeführt worden. Es ist dabei strittig, wieweit die einzelnen Heilmittel hinsichtlich ihrer Angriffsweise und hinsichtlich ihres therapeutischen Erfolges voneinander verschieden sind. Bisher ist es nicht gelungen speziellere Indikationen für die einzelnen herzwirksamen Glykoside aufzustellen. Hinsichtlich ihres Wirkungsmechanismus bestehen Unterschiede, die mit der gewöhnlichen Untersuchungsmethode am überlebenden Tierherzen aber nicht aufgedeckt werden können. Die vorliegende Arbeit, die als Ergänzung zu anderen Arbeiten ausgeführt wurde, hat zum Gegenstand die Beeinflussung einiger Dehydrierungsreaktionen im Gewebe durch die genannten Stoffe. Als Maßstab für die Größe der Dehydrierungsvorgänge diente die Methode der Methylenblauentfärbung nach Thunberg.

Versuchsserie I.

Zum Zustandekommen der biologischen Dehydrierungsvorgänge müssen drei Bedingungen erfüllt sein. 1. müssen abbaufähige Stoffe — Wasserstoffdonatoren — vorliegen, 2. auf den Abbau dieser Verbindungen spezifisch eingestellte Fermente, 3 Wasserstoffakzeptoren. Fehlt einer dieser drei Faktoren im katalystischen Dreikörpersystem dann kann keine Umsetzung stattfinden. Die Fermente (Dehydrasen) haben nach Wieland die Aufgabe den Wasserstoff der oxydablen-dehydrierbaren Verbindungen zu aktivieren. Dieser aktivierte Wasserstoff wird dann auf den Wasserstoffakzeptor übertragen der dadurch reduziert wird.

Nach der von uns verwendeten Thunberg'schen Methylenblaumethode dient das Methylenblau als Wasserstoffakzeptor, das dabei unter Aufnahme von Wasserstoff in die farblose Leucobase übergeht. In frischem Gewebe spielen die im Gewebe enthaltenen Nährstoffe die Rolle von Wasserstoffdonatoren. Ihre Menge bestimmt im Wesentlichen die Zeitdauer der Methylenblauenfärbung. In der ersten Versuchsserie wurde nun geprüft in welcher Weise die beiden Glykoside Adonidin und Convallamarin die Dehydrierung dieser, im Gewebe präformierten Nährstoffe, beeinflussen. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle I und aus der graphischen Darstellung zu ersehen.

Tabelle I (ohne Zusatz)

Muskel.

Entfärbungszeit in Minuten

Konzentration	Adonidin				Convallamarin			
Kontrollversuch	16	21	24	14	16	18	16	
0,25.10/^{10}	18	--	24	15	16	18	16	
0,25.10/^{9}	18	23	24	16	16	18	16	
0,25.10/^{8}	19	23	24	15	16	18	16	
0,25.10/^{7}	21	23	24	15	—	19	19	
0,25.10/^{6}	21	23	24	15	25	—	19	
0,25.10/^{5}	21	24	27	17	26	25	26	
0,25.10/^{4}	—	24	27	17	27	26	26	
0,25.10/^{3}	20	24	28	19	34	28	29	
Versuchstier:	Meerschweinchen		Frosch		Frosch		Meerschweinchen	

Die Wirkungsweise der beiden Glykoside ist einheitlich, indem sie mit ansteigender Konzentration die Methylenblauenfärbung verzögern. In höheren gleichen Konzentrationen verzögert das Convallamarin die Dehydrierungsvorgänge weit stärker als das Adonidin. Das Convallamarin ist also ein stärkeres Fermentgift als das Adonidin.

Versuchsserie II.

Das Stabilisierungsprodukt des anaeroben Kohlenhydratabbaues im Gewebe ist die Milchsäure, die vor allem bei der Muskelkontraktion gebildet wird. In der folgenden Versuchsserie wurde die Dehydrierung der Milchsäure durch Zusatz von Laktat untersucht. Die Laktatabbauversuche sind in Tabelle II wiedergegeben. Die Beeinflussung der Milch-

Tabelle II (Laktat)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Adonidin				Convallamarin			
Kontrollversuch	21	19	28	26	15	14	26	28
0,25.10/10	21	19	—	26	15	14	26	28
0,25.10/9	21	19	31	17	15	14	26	27
0,25.10/8	—	19	31	17	14	14	26	28
0,25.10/7	22	21	31	24	14	14	26	28
0,25 10/6	24	21	31	32	15	16	26	28
0,25.10/5	26	20	37	40	16	16	28	28
0,25.10/4	26	23	37	40	16	16	28	30
0,25.10/3	27	25	37	40	16	16	28	30
Versuchstier:	Hund				Frösch			

säuredehydrierung durch die Glykoside weicht sehr erheblich von Versuchsergebnissen ohne Zusatz von denen mit Laktat ab. Adonin ist fast ohne jede Einwirkung, es hemmt den Abbau der Milchsäure selbst in den höchsten Konzentrationen nur ganz wenig. Convallamarin dagegen verschlechtert die Dehydrierung der Milchsäure erheblich in größeren Konzentrationen. Starke Verdünnungen sind wirkungslos oder führen sogar wie in Versuch IV zu einem beschleunigten Laktatabbau. Die

Größe der Hemmungswirkung bei der stärksten Konzentration ist wesentlich schwächer als ohne Zusatz von Laktat.

Versuchsserie III.

In den folgenden Versuchen wurde der Einfluß von Adonidin und Convallamarin auf den Abbau des wichstigsten Depotkohlenhydrats des Organismus, des Glykogens, untersucht. Die beiden Glykoside wirken hier einheitlich. Sie verschlechtern mit ansteigender Konzentration die Glykogenverwertung. Das Maximum der Hemmungswirkung liegt nicht immer bei der höchsten Konzentration. In einer Reihe von Versuchen geht bei der stärksten Dosierung die Hemmungswirkung verloren.

Tabelle III (Glykogen)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentrationen	Adonidin					Convallamarin			
Kontrollversuch	26	15	19	19	22	27	22	23	25
0,25.10/^{10}	26	—	23	19	22	26	22	27	24
0,25.10/^{9}	26	16	25	19	25	26	27	27	24
0,25.10/^{8}	26	15	25	21	23	26	27	27	24
0,25.10/^{7}	30	17	25	23	23	26	27	27	24
0,25.10/^{6}	30	17	27	21	26	28	27	30	24
0,25.10/^{5}	34	19	27	26	25	28	25	30	24
0,25 10/^{4}	34	16	27	26	25	33	27	30	26
0,25.10/^{3}	32	20	19	26	25	34	22	23	28
Versuchstier:	K	K	M	M	F	K	K	M	M

K — Kaninchen
M — Meerschweinchen
F — Frosch

Versuchsserie IV und V.

Bei der Untersuchung von Stoffwechselwirkungen von Herzmitteln ist ihr Verhalten auf den Abbau der Glykose von besonderer Wichtigkeit, weil die Glukose vom Herzmuskel in ganz besonders starkem Umfange zur Bestreitung des Energiebedarfes herangezogen wird. Der Abbau der Glukose im Herzmuskelgewebe, sowie auch in allen übrigen Organen mit Ausnahme von Hirn, Lunge und Retinagewebe geht über Hexosephosphorsäureverbindungen. Das Phosphat ist hier also für die Glykoseverwertung unentbehrlich. In Versuchen dieser Versuchsserie wurde die Glykolyse in den beiden Organtypen Herz und Hirn in Anwesenheit der Glykoside geprüft Da der Abbaumechanismus für die Glykoside verschieden ist, mußten beide Stoffwechselorgane zur Untersuchung herangezogen werden. Die Versuche (Tabelle IV und V) zeigen einheitlich, daß Adonidin und Convallamarin sowohl auf den Ab-

Tabelle IV (Glukose)

Herz

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Adonidin				Convallamarin				
Kontrollversuch	17	15	16	15	16	15	24	15	32
0,25.10/10	17	15	16	15	16	15	24	15	32
0,25.10/9	17	15	16	16	16	15	24	15	32
0,25.10/8	17	15	18	16	16	15	24	15	32
0,25.10/7	17	15	18	17	16	15	24	—	32
0,25.10/6	17	15	16	17	16	15	24	15	32
0,25.10/5	15	15	17	16	17	15	24	15	32
0,25.10/4	15	15	18	16	18	15	20	11	31
0,25.10/3	15	15	18	17	18	15	24	14	31
Versuchstier:	**Rind**		**Hund**		**Rind**			**Hund**	

bau der Glukose im Herzgewebe wie auch im Hirngewebe ohne jede Einwirkung sind. Selbst in den stärksten Konzentrationen bleibt die Glukoseverwertung ungestört.

Tabelle V (Glukose)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Adonidin				Convallamarin			
Kontrollversuch	17	17	17	33	15	15	20	31
0,25.10/10	17	18	18	33	16	16	22	31
0,25.10/9	17	19	17	33	16	14	22	30
0,25.10/8	17	19	17	33	16	16	21	31
0,25.10/7	16	18	17	33	16	15	22	30
0,25.10/6	16	18	17	33	16	15	22	31
0,25.10/5	16	18	17	33	16	15	22	31
0,25.10/4	16	19	18	33	15	15	22	31
0,25.10/3	19	19	18	33	16	15	22	32
Versuchstier:	**Rind**		**Hund**		**Rind**		**Hund**	

Versuchsserie VI.

Wie eingangs erwähnt, sind die Dehydrierungsvorgänge an die Intaktheit eines sog. katalytischen Dreikörpersystems gebunden. In stark mit Wasser ausgewaschenem Gewebe, das in den letzten drei Versuchsserien zur Verwendung kam, kann keine Entfärbung des Methylenblaus eintreten, weil durch das Auswaschen die Brennstoffe aus dem Gewebe entfernt worden sind, mit ihnen gleichzeitig die Mehrzahl der Gewebsdehydrasen. Setzt man Stoffe hinzu deren dehydrierende Fermente im Gewebe erhalten geblieben sind, so sind die Vorbedingungen für den Abbau wieder erfüllt. Das Methylenblau wird entfärbt. Beim Auswaschen

des Gewebes bleiben die Dehydrasen wirksam die den Abbau der Bernsteinsäure, Hexosediphosphorsäure und Glyzerinphosphorsäure vollziehen. Untersucht wurde zunächst die Dehydrierung der Bernsteinsäure. Wie aus der Tabelle VI und der graphischen Darstellung hervorgeht, läßt Adonidin die Bernsteinsäuredehydrase unbeeinflußt. Convallamarin dagegen führt bei den höheren Konzentrationen zu einer Verzögerung der Bernsteinsäuredehydrierung mäßigen Grades.

Tabelle VI (Bernsteinsäure)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Adonidin				Convallamarin			
Kontrollversuch	24	21	31	23	30	23	23	32
0,25.10/10	24	21	31	23	30	23	23	32
0,25 10/9	24	21	31	23	30	23	23	32
0,25.10/8	26	21	31	23	30	23	23	30
0,25.10/7	24	—	31	22	30	23	23	30
0,25.10/6	27	21	31	22	32	23	29	32
0,25.10/5	24	21	32	22	36	24	29	32
0,25.10/4	24	22	31	22	36	29	29	32
0,25.10/3	26	22	31	22	36	29	—	36

Versuchstier: Kaninchen

Versuchsserie VII und VIII.

Der Abbau von Hexosediphosphat verläuft unter der Einwirkung der beiden Glykoside vollkommen ungestört (Tabelle VII). Die Dehydrierung der Glyzerinphosphorsäure dagegen zeigt einige Besonderheiten. Während für alle bisher besprochenen Fermentsysteme, falls überhaupt eine Einwirkung festzustellen war, das Convallamarin eine höhere

Toxizität zeigte als das Adonidin, verhalten sich die beiden Glykoside beim Abbau der Glyzerinphosphorsäure genau umgekehrt. Convallamarin beeinflußt die Dehydrierung der Glyzerinphosphorsäure bei keiner Konzentration. Adonidin dagegen setzt mit ansteigender Dosierung die Dehydrierung der Glyzerinphosphorsäure immer mehr herab.

Tabelle VII (Hexosediphosphorsäure)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Adonidin				Convallamarin			
Kontrollversuch	47	15	22	26	27	17	28	
$0{,}25.10/^{10}$	47	15	22	26	27	16	28	
$0{,}25.10/^{9}$	47	10	23	26	27	16	28	
$0{,}25.10/^{8}$	43	15	23	26	28	16	29	
$0{,}25.10/^{7}$	47	15	22	28	30	16	29	
$0{,}25.10/^{6}$	47	18	22	27	30	16	28	
$0{,}25.10/^{5}$	47	15	22	27	30	19	31	
$0{,}25.10/^{4}$	47	15	24	27	30	21	31	
$0{,}25.10/^{3}$	47	15	22	27	28	21	31	
Versuchstier:	Kaninchen							

Tabelle VIII (Glyzerinphosphorsäure)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Adonidin				Convallamarin			
Kontrollversuch	23	21	18	28	21	24	32	22
0,25.10/10	23	21	18	32	21	24	32	24
0,25.10/9	24	28	20	32	21	24	33	23
0,25.10/8	24	28	23	33	21	24	35	23
0,25.10/7	23	28	23	33	21	24	35	23
0,25.10/6	26	27	27	33	22	26	33	22
0,25.10/5	26	28	27	35	21	24	33	22
0,25.10/4	26	32	—	37	22	26	33	22
0,25.10/3	29	—	27	37	22	25	33	22

Versuchstier: Kaninchen

Zusammenfassung.

Es wurde die Einwirkung von zwei digitalisartigen Glykosiden Adonidin und Convallamarin auf einige Dehydrierungsvorgänge im Gewebe untersucht. Die meisten Fermentreaktionen bleiben vollkommen unbeeinflußt. Sind Einflüsse nachweisbar, so sind lediglich Hemmungen der Dehydrierungsvorgänge festzustellen. Im Wirkungsbild der beiden Glykoside bestehen einige Unterschiede. Auf die Summe der Gewebsdehydrasen ist das Convallamarin ein stärkeres Gift als das Adonidin, ebenso für die Milchsäuredesydrase, die durch Adonidin in keiner Weise in ihrer Wirksamkeit herabgesetzt wird. Lediglich für die Glyzerinphosphorsäuredehydrase ist Adonidin ein stärkeres Gift als Convallamarin. Die Ergebnisse sind in der Übersichtstabelle IX zusammengefaßt.

Tabelle IX Übersichtstabelle

Fermentreaktionen	Akonidin			Convallamarin		
	Konzentration:					
	Schw.	mittel	stark	schw.	mittel	stark
1. Gewebsdonatoren	+	+	–	+	- -	- - -
2 Milchsäure	+	+	–	+	–	–
3. Glykogen	+	–	–	+	–	–
4. Glukose: Herz	+	+	+	+	+	+
5. Glukose: Hirn	+	+	+	+	+	+
6. Bernsteinsäure	+	+	+	+	+	-
7. Hexosediphosphors.	+	+	+	+	+	+
8. Clyzerinphosphors.	+	+	-	+	+	+

\+ — keine Einwirkung
\- — schwache Hemmung
\- - — starke Hemmung
\- - - — sehr starke Hemmung.

Verglichen mit den bisher untersuchten Herzglykosiden ist zu sagen, daß die beiden hier untersuchten Stoffe eine sehr geringe Stoffwechselwirkung haben, soweit die Dehydrierungsreaktionen in Betracht kommen. Diese stellen aber nur eine Teilreaktion dar, deren Beeinflussung keine Schlüsse zuläßt auf die sonstigen Einwirkungen am intermediären Stoffwechsel, welche Gegenstand besonderer Untersuchungen Haarmann's und seiner Mitarbeiter sind.

Lebenslauf.

Ich wurde am 5. Juni 1908 in Essen geboren. Nachdem ich vier Jahre die Volksschule besucht hatte, machte ich 1929 auf der Oberealschule in Hersel bei Bonn das Abitur. Ich studierte vier Semester in Bonn Zahnheilkunde und bestand dort das Physikum. In meinen drei klinischen Semestern war ich an den Universitäten Kiel und Münster. Am 21. Dezember 1932 legte ich in Münster/Westf. das zahnärztliche Staatsexamen ab.

Hilde Paulus.

DRUCK VON M. JUST
ESSEN-BERGEBORBECK
BOCHOLDERSTR. 259
FERNSPRECHER 30661